

## 日 本 国 特 許 庁

PATENT OFFICE  
JAPANESE GOVERNMENT

01.07.99	
REC'D 20 AUG 1999	
WIPO	PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日  
Date of Application:

1999年 3月25日

出 願 番 号  
Application Number:

平成11年特許願第081549号

出 願 人  
Applicant(s):

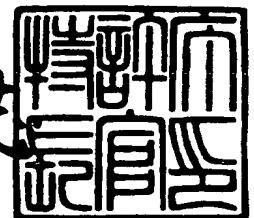
キリンアムジェン・インコーポレーテッド

PRIORITY  
DOCUMENTSUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

1999年 7月22日

特許庁長官  
Commissioner,  
Patent Office

佐山 建志



出証番号 出証特平11-3051798

【書類名】 特許願

【整理番号】 P99-0147

【提出日】 平成11年 3月25日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 A61K

【発明の名称】 高分子医薬品含有粉末状経粘膜投与製剤

【請求項の数】 12

【発明者】

【住所又は居所】 群馬県高崎市宮原町3 麒麟麦酒株式会社 医薬開発研究所内

【氏名】 野村 英昭

【発明者】

【住所又は居所】 群馬県高崎市宮原町3 麒麟麦酒株式会社 医薬開発研究所内

【氏名】 植木 洋祐

【特許出願人】

【識別番号】 393031128

【氏名又は名称】 キリン・アムジェン・インコーポレーテッド

【代理人】

【識別番号】 100091096

【弁理士】

【氏名又は名称】 平木 祐輔

【選任した代理人】

【識別番号】 100096183

【弁理士】

【氏名又は名称】 石井 貞次

【選任した代理人】

【識別番号】 100098121

【弁理士】

【氏名又は名称】 間山 世津子

【先の出願に基づく優先権主張】

【出願番号】 平成10年特許願第192722号

【出願日】 平成10年 7月 8日

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 015244

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 高分子医薬品含有粉末状経粘膜投与製剤

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 高分子医薬品およびカチオン性ポリマーを含有してなる粉末状経粘膜投与製剤。

【請求項 2】 さらに増粘性ポリマーを含有してなる請求項 1 記載の粉末状経粘膜投与製剤。

【請求項 3】 カチオン性ポリマーがアミノアルキルメタアクリレートコポリマーである請求項 1 記載の粉末状経粘膜投与製剤。

【請求項 4】 カチオン性ポリマーがポリビニルアセタールジエチルアミノアセレートである請求項 1 記載の粉末状経粘膜投与製剤。

【請求項 5】 カチオン性ポリマーがポリ-L-アルギニンである請求項 1 記載の粉末状経粘膜投与製剤。

【請求項 6】 増粘性ポリマーがヒドロキシプロピルメチルセルロースである請求項 2 記載の粉末状経粘膜投与製剤。

【請求項 7】 高分子医薬品が、生理活性を有するペプチドおよびタンパク質、抗体、ワクチン、ならびに抗原からなる群より選択される請求項 1 記載の粉末状経粘膜投与製剤。

【請求項 8】 生理活性を有するペプチドが顆粒球コロニー刺激因子である請求項 7 記載の粉末状経粘膜投与製剤。

【請求項 9】 経鼻投与製剤である請求項 1 ～ 8 のいずれか 1 項に記載の粉末状経粘膜投与製剤。

【請求項 10】 高分子医薬品およびカチオン性ポリマーを含有してなる粉末状医薬組成物。

【請求項 11】 高分子医薬品が、生理活性を有するペプチドおよびタンパク質、抗体、ワクチン、ならびに抗原からなる群より選択される請求項 10 記載の粉末状医薬組成物。

【請求項 12】 生理活性を有するペプチドが顆粒球コロニー刺激因子である請求項 11 記載の粉末状医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、高分子医薬品を有効成分として含有する経粘膜投与製剤に関し、より詳細には、高分子医薬品およびカチオン性ポリマーを含有してなる粉末状経粘膜投与製剤に関する。本発明は、特に、粉末状経鼻粘膜投与製剤に関する。

【0002】

【従来の技術】

現在、高分子医薬品は治療に際し、静脈内あるいは皮下に対して注射による投与が行われている。しかし、注射による高分子医薬品の投与は患者自身が行うことが困難な上に苦痛を伴うことから、注射以外のより簡便な投与方法として経粘膜投与が望まれている。経粘膜投与の具体例としては、鼻粘膜、眼粘膜、口腔粘膜、肺粘膜、膣粘膜、また胃粘膜、小腸粘膜、大腸粘膜、直腸粘膜などの消化管粘膜からの投与を挙げることができる。中でも、鼻粘膜投与が速やかな薬物吸収と確実な効果がもたらされる比較的簡便な投与方法として注目されている。しかしながら、その吸収性は分子量に依存し、分子量が1,000以下のものは比較的効果的に吸収されるが、それ以上になると何らかの工夫無しに効果的に吸収させることは困難である（C. McMartin等：J. Pharm. Sci., 76(7)：535-540(1987)）。したがって高分子医薬品を鼻粘膜を通して投与することによって治療効果を得ることは難しかった。

【0003】

高分子医薬品の難吸収性を改善する手段として、界面活性剤や胆汁酸塩を吸収促進剤として併用する方法（S. Hirai等：Int. J. Pharm., 9：173-184(1981)、Y. Maitani等：Drug Design and Delivery, 1：65-70(1986)）、シクロデキストリンを吸収促進剤として併用する方法（N. G. M. Schipper等：J. Control Release, 21(1)：173-185(1992)、T. Irie等：J. Inter. Pharm., 84：129-139(1992)）があるが、これらの吸収促進剤は鼻粘膜への障害性が懸念されることが問題とな

っている。一方、アルブミン、デキストラン、ヒアルロン酸ナトリウムなどの高分子類を吸収促進剤として併用する方法（T. Igawa等：Chem. Pharm. Bull. 36(8)：3055-3059（1988）、特開平6-65090号、特開平8-198772号）があるが、吸収促進効果がいまだ充分でないことや工業的な製造が困難なことなどにより実用化にいたっていない。

#### 【0004】

また、特開平10-95738号には、難吸収性のモデル薬物（物質）として、フルオロセインイソチオシアネートデキストラン（以下、「FITC-dextran」と記す、分子量；4,400）を用い、これをアルギニン、そのポリ体またはそのポリ体の塩を溶解させた生理食塩水に加えた製剤を調製し、この製剤をウイスターラットの鼻腔粘膜内に投与したところ、FITC-dextranのより高い血中濃度が持続したことが記載されている。

#### 【0005】

特表平4-503508号には、インシュリン溶液にDEAE-デキストランまたはキトサンを添加した製剤をラットの鼻孔に投与したことが記載されている。

以上のような種々の方法が開発されているが、今なお、高分子医薬品の難吸収性を改善する手段として、より効果的および実用的な方法が求められている。

#### 【0006】

##### 【発明が解決しようとする課題】

従って、本発明は、高分子医薬品を粘膜より安全に効率よく吸収させることのできる経粘膜投与製剤、特に経鼻投与製剤を提供することを目的とする。また、本発明は、高分子医薬品を安全に効率よく生体に吸収させることのできる粉末状医薬組成物を提供することも目的とする。

#### 【0007】

##### 【課題を解決するための手段】

本発明者等は高分子医薬品を安全に効率よく粘膜から吸収させる製剤の開発を目的に検討した結果、カチオン性ポリマーが粘膜組織のタイトジャンクションを拡張させることにより高分子医薬品の粘膜からの吸収を促進させること、さらには増粘性ポリマーをカチオン性ポリマーと併用させると増粘性ポリマーの働きに

より粘膜内での滞留性が向上しさらなる吸収の増大が得られることを見だし、本発明を完成させた。また、本発明者らは、カチオン性ポリマーの中でも特に、アミノアルキルメタアクリレートコポリマー、または、ポリビニルアセタールジエチルアミノアセテートが、同じくカチオン性ポリマーであるポリ-L-アルギニンと比較してその吸収促進効果が優れていることを見出している。

## 【0008】

すなわち、本発明は、高分子医薬品およびカチオン性ポリマーを含有してなる粉末状経粘膜投与製剤、特に経鼻投与製剤を提供する。本発明の粉末状経粘膜投与製剤は、さらに増粘性ポリマーを含有するとよい。カチオン性ポリマーとしては、アミノアルキルメタアクリレートコポリマー、ポリビニルアセタールジエチルアミノアセテート、ポリ-L-アルギニンなどが挙げられるが、アミノアルキルメタアクリレートコポリマーおよびポリビニルアセタールジエチルアミノアセテートが好ましい。増粘性ポリマーとしては、ヒドロキシプロピルメチルセルロースが挙げられる。高分子医薬品は、生理活性を有するペプチドおよびタンパク質、抗体、ワクチン、ならびに抗原からなる群より選択することができるが、本発明の粉末状経粘膜投与製剤は、特に、顆粒球コロニー刺激因子の経粘膜投与、特に経鼻投与に効果的である。

## 【0009】

また、本発明は、高分子医薬品およびカチオン性ポリマーを含有してなる粉末状医薬組成物を提供する。本発明の粉末状医薬組成物において、高分子医薬品は、生理活性を有するペプチドおよびタンパク質、抗体、ワクチン、ならびに抗原からなる群より選択することができるが、本発明の粉末状医薬組成物は、特に、顆粒球コロニー刺激因子の投与に効果的である。

## 【0010】

## 【発明の実施の形態】

本発明の一態様において、本発明の粉末状経粘膜投与製剤は、高分子医薬品に賦形剤（例えば、糖類）およびカチオン性ポリマー、あるいはさらに増粘性ポリマーを、さらに必要に応じて適当な添加剤を加え、凍結乾燥（フリーズドライ）あるいは噴霧乾燥（スプレードライ）することにより得られる。

## 【0011】

本発明において用いられる高分子医薬品とは生理活性を有するペプチドおよびタンパク質、抗体、ワクチン、抗原などをさし、具体的には次のようなものが挙げられるが、本発明はこれらにより何ら限定されるものではない。カルシトニン、インスリン、プロインスリン、バソプレッシン、デスモプレシン、黄体形成ホルモン、黄体形成ホルモン放出ホルモン、ソマトスタチン、プロラクチン、グルカゴン、ガストリン、セクレチン、カリクレイン、ウロキナーゼ、ニューロテンシン、エンケファリン、キョートルフィン、エンドルフィン、エンドセリン、アンギオテンシン、トランスフェリン、心房性ナトリウム利尿ペプチド、上皮細胞増殖因子、成長ホルモン、副甲状腺ホルモン、インターフェロン、インターロイキン、腫瘍壊死因子、白血病細胞阻止因子、血液幹細胞増殖因子、エリスロポエチン、顆粒球コロニー刺激因子、顆粒球マクロファージ刺激因子、マクロファージコロニー刺激因子、トロンボポエチン、スーパーオキシドディスムターゼ、ティシュープラスミノゲンアクチベーター、アンチトロンビン、血液凝固因子、抗IgE抗体、抗IgA抗体、抗腫瘍抗体、腫瘍壊死因子抗体、抗インターロイキン抗体、HIV中和抗体、抗血小板抗体、抗肝炎ウイルス抗体、肝炎ワクチン、インフルエンザワクチン、百日咳ワクチン、ジフテリアワクチン、破傷風ワクチン、杉花粉あるいはぶたくさ花粉などの、抗原として作用しうるペプチドあるいはタンパク質およびそれらのハプテン結合物、さらにはそれらとアジュバントとの混合物など。また、これらに挙げた高分子医薬品よりも分子量の小さな医薬品に対しても、本発明はその粘膜、特に鼻粘膜からの吸収性をより増大させることが容易に推測され、本発明の適用が有用と考えられる。

## 【0012】

本発明に用いることができる高分子医薬品の一つであるG-CSFの例としては、配列番号1～3のアミノ酸配列で表されるヒトG-CSF活性を有するポリペプチド、又はこれに糖鎖が付された糖タンパク質を挙げることができる。更に同配列のアミノ酸配列の一部が改変（置換、欠失、挿入、および／または付加）されたG-CSF活性を有するG-CSF誘導体も本発明におけるG-CSFに含まれる。



## 【0013】

これらのG-CSFは、天然物から抽出・分離・精製するか、或いは遺伝子組換えによって形質転換して得た形質転換体をして生産せしめ、単離精製したものを使用することができる。宿主細胞としては大腸菌、哺乳動物細胞（C127、CHO細胞など）を挙げることができる。これらの詳細な製造方法については、例えば、特表昭63-500636号や特開昭62-236497号、特開昭62-236488号、および特開昭63-267292号明細書に開示されている。

本発明の粉末状経粘膜投与製剤における高分子医薬品の含有率は、通常0.01～90W/W%、好ましくは0.1～50W/W%である。

## 【0014】

本発明において用いられるカチオン性ポリマーとは、反復構造をなす基本単位の中にカチオンチャージを有する、あるいは溶解するとカチオンチャージを有するようになる構造を持つものをいう。本発明において用いられるカチオン性ポリマーは、粘膜からの高分子医薬品の吸収を促進する効果を持つものであればよい。具体的には、アミノアルキルメタアクリレートコポリマー、ポリビニルアセタールジエチルアミノアセテート、ポリ-L-アルギニンなどを用いることができる。アミノアルキルメタアクリレートコポリマーは、例えば、Rohm Pharma から商品名オイドラギットEおよびオイドラギットRSとして入手することができるが、これは、メタアクリル酸メチルとアクリル酸ブチルおよびメタアクリル酸ジメチルアミノエチルの共重合体であり、オイドラギットEについて平均分子量は150,000である。ポリビニルアセタールジエチルアミノアセテートは、例えば、三共（株式会社）から商品名AEAとして入手することができるが、これは、ポリビニルアルコールとアセトアルデヒドを脱水して得たアセタールおよび水酸基の一部にジエチルアミノ酢酸をエステル結合させて得られる平均分子量65,000の重合体である。ポリ-L-アルギニンは、L-アルギニンの重合体であり、平均分子量としては1000～1,000,000のものが挙げられるが、好ましくは12,100～92,000であるとよく、より好ましくは92,000である。ポリ-L-アルギニンは、シグマから入手することができる。本発明の粉末状経粘膜投与製剤におけるカチオ

ン性ポリマーの含有率は、通常0.1～90W/W%、好ましくは1～50W/W%である。

#### 【0015】

本発明において用いられる増粘性ポリマーとは、溶解時あるいは膨潤時に粘性をもつポリマーをさす。本発明において用いられる増粘性ポリマーは、カチオン性ポリマーと併用された時に、カチオン性ポリマーが単独で用いられた時よりも、高分子医薬品の吸収が増大するものであればよい。具体的には、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシビニルポリマー、カンテン末、アラビアゴム末などを用いることができる。本発明の粉末状経粘膜投与製剤における増粘性ポリマーの含有率は、通常0.1～90W/W%、好ましくは1～50W/W%である。

#### 【0016】

本発明において用いられる賦形剤は糖類に代表されるが、このような糖類としては、キシリトール、フルクトース、ソルビトール、ラクトース、イノシトール、シュクロース、マンニトール等などがあげられる。その他にも、賦形剤としては、デンプン類、無機質類、有機質類、アミノ酸類などが挙げられる。デンプン類としては、トウモロコシデンプン、小麦デンプン、バレイショデンプンなどが含まれる。無機質類としては、リン酸カルシウム、リン酸水素カルシウム、リン酸水素2ナトリウム、リン酸2水素ナトリウム、炭酸マグネシウム、塩化ナトリウム、硫酸カルシウムなどが含まれる。有機酸類としては、コハク酸、酒石酸、クエン酸、フマル酸、リンゴ酸、グルコン酸、グルクロン酸およびその塩などが含まれる。アミノ酸類としては、L-アルギニン、D, L-メチオニン、L-フェニルアラニン、L-グルタミン酸などが含まれる。本発明の粉末状経粘膜投与製剤における賦形剤の含有率は、通常1～90W/W%、好ましくは5～80W/W%である。

#### 【0017】

本発明では必要に応じて滑沢剤などの添加剤を用いる。滑沢剤としては、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、タルクなどが含まれる。本発明の粉末状経粘膜投与製剤における添加剤の含有率は、通常0.01～90W/W%、好ましくは

0.05～50W/W%である。

以下に、本発明の粉末状経粘膜投与製剤の製造方法の一例を簡単に説明する。

【0018】

G-C-S-Fの緩衝溶液とあらかじめカチオン性ポリマー、シュクロース、あるいはまた増粘性ポリマーを溶解させておいた緩衝溶液を混合する。これを噴霧乾燥し、粉末を得る。

得られた粉末を必要量秤量し、カプセルに充填して粉末状経粘膜投与製剤を得る。

上記のようにして製造された経粘膜投与製剤の粉末は、通常0.1～500 $\mu$ mの粒径（直径）を有し、好ましくは、5～100 $\mu$ mの粒径を有する。

【0019】

経粘膜投与製剤の粉末はカプセル化されていると取扱が容易になる。カプセル基剤の材料としては、ゼラチン、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、メチルセルロース、デンプンなどを挙げることができ、これらの材料にグリセリン、ソルビトール、カラギーナン、ポリエチレングリコール、アラビアゴムなどを添加して、塑性を増加させてもよい。

その他にも、塩化カリウム、シュクロース、着色剤、酸化チタンを添加してもよい。

【0020】

本発明の粉末状経粘膜投与製剤は、必要時にあるいは適当な投与頻度で、患者の粘膜に投与することができる。粘膜の具体例としては、鼻粘膜の他に眼粘膜、口腔粘膜、肺粘膜、膈粘膜、また、胃粘膜、小腸粘膜、大腸粘膜、直腸粘膜などの消化管粘膜を挙げることができる。例えば、本発明の製剤を経鼻投与する場合には、粉末状製剤を内包するカプセルを小型噴霧器（バブライザー）にセットし、カプセルに穴をあけた後、ノズルを鼻孔に挿入し、鼻で息を吸いながら、ゴム球を押さえることにより、鼻腔内に粉末状製剤を噴霧すればよい。

以下、本発明を実施例により具体的に説明するが、本発明の範囲はこれらの実施例に限定されることはない。

## 【0021】

## 【実施例】

以下の実施例および比較例において使用したカチオン性ポリマー、シュクロース、D-マンニトール、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒアルロン酸ナトリウム、それらの緩衝溶液の成分（緩衝成分）は以下のとおりである。

## 【0022】

## カチオン性ポリマー

ポリ-L-アルギニン（シグマ社）

アミノアルキルメタアクリレートコポリマー（Rohm Pharma社、商品名：オイ  
ドラギット(Eudragit) E-100)

ポリビニルアセタールジエチルアミノアセテート（三共社、商品名：AEA）

ジエチルアミノエチル（DEAE）-デキストラン（Fluka社）

キトサン（キトサン8B、製造元：カトキチ社、販売元：フナコシ社）

シュクロース（小堺製薬、日本薬局方 白糖）

D-マンニトール（花王 ニッキョク マンニトール カオー）

ヒドロキシプロピルメチルセルロース（信越化学、商品名：メトロース60SH4000  
）

ヒアルロン酸ナトリウム（東京化成工業）

## 緩衝成分

クエン酸（東洋製薬化成）、リン酸（国産化学）

## 【0023】

以下の実施例で用いた顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）は、遺伝子組換え大腸菌により産生された、配列番号1に記載のアミノ酸配列を有するポリペプチドである（特表昭63-500636 参照）。また、こうして得られたG-CSFを濃縮、緩衝液置換をしてG-CSF緩衝液を得た。

以下の実施例で用いたインシュリンは市販のもの（ベーリンガー・マンハイム社 ヒト組替え体 Mw=5700）である。

## 【0024】

## 〈実施例1〉

顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）の緩衝溶液にシュクロースおよびポリ-L-アルギニンの緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻製剤を得た。

G-CSF	20W/W%
ポリ-L-アルギニン	20W/W%
シュクロース	26W/W%
緩衝成分	適量
全量	100W/W%

【0025】

#### 〈実施例2〉

顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）の緩衝溶液にシュクロースおよびポリビニルアセタールジエチルアミノアセテート（AEA）の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻製剤を得た。

G-CSF	20W/W%
AEA	20W/W%
シュクロース	26W/W%
緩衝成分	適量
全量	100W/W%

【0026】

#### 〈実施例3〉

顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）の緩衝溶液にシュクロースおよびミノアルキルメタアクリレートコポリマー（オイドラギットE-100）の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻製剤を得た。

G-CSF	20W/W%
オイドラギット	20W/W%
シュクロース	26W/W%
緩衝成分	適量
全量	100W/W%

## 【0027】

## 〈実施例4〉

顆粒球コロニー刺激因子 (G-C S F) の緩衝溶液にシュクロースおよびアミノアルキルメタアクリレートコポリマー (オイドラギットE-100) の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方 of 粉末状経鼻製剤を得た。

G-C S F	20 W/W%
オイドラギット	10 W/W%
シュクロース	63 W/W%
緩衝成分	適量
全量	100 W/W%

## 【0028】

## 〈実施例5〉

顆粒球コロニー刺激因子 (G-C S F) の緩衝溶液にシュクロースおよびアミノアルキルメタアクリレートコポリマー (オイドラギットE-100) の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方 of 粉末状経鼻製剤を得た。

G-C S F	20 W/W%
オイドラギット	20 W/W%
シュクロース	53 W/W%
緩衝成分	適量
全量	100 W/W%

## 【0029】

## 〈実施例6〉

顆粒球コロニー刺激因子 (G-C S F) の緩衝溶液にシュクロースおよびアミノアルキルメタアクリレートコポリマー (オイドラギットE-100) の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方 of 粉末状経鼻製剤を得た。

G-C S F	20 W/W%
オイドラギット	30 W/W%
シュクロース	43 W/W%
緩衝成分	適量

全量 100W/W%

【0030】

〈実施例 7〉

顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) の緩衝溶液にシュクロースおよびアミノアルキルメタアクリレートコポリマー (オイドラギットE-100) の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻製剤を得た。

G-CSF 20W/W%

オイドラギット 57W/W%

緩衝成分 適量

全量 100W/W%

【0031】

〈実施例 8〉

顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) の緩衝溶液にシュクロースおよびアミノアルキルメタアクリレートコポリマー (オイドラギットE-100) の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻製剤を得た。

G-CSF 20W/W%

オイドラギット 20W/W%

シュクロース 47W/W%

緩衝成分 適量

全量 100W/W%

【0032】

〈実施例 9〉

顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) の緩衝溶液にシュクロースおよびアミノアルキルメタアクリレートコポリマー (オイドラギットE-100) およびヒドロキシプロピルメチルセルロース (HPMC) の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻製剤を得た。

G-CSF 20W/W%

オイドラギット 20W/W%

HPMC 10W/W%

シュクロース	3 7 W / W %
緩衝成分	適量
全量	1 0 0 W / W %

## 【 0 0 3 3 】

## 〈実施例 1 0〉

顆粒球コロニー刺激因子 (G - C S F) の緩衝溶液にシュクロースおよびアミノアルキルメタアクリレートコポリマー (オイドラギット E-100 ) およびヒドロキシプロピルメチルセルロース (H P M C) の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻製剤を得た。

G - C S F	2 0 W / W %
オイドラギット	2 0 W / W %
H P M C	2 0 W / W %
シュクロース	2 7 W / W %
緩衝成分	適量
全量	1 0 0 W / W %

## 【 0 0 3 4 】

## 〈比較例 1〉

顆粒球コロニー刺激因子 (G - C S F) の緩衝溶液にシュクロースの緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻製剤を得た。

G - C S F	2 0 W / W %
シュクロース	4 6 W / W %
緩衝成分	適量
全量	1 0 0 W / W %

## 【 0 0 3 5 】

## 〈比較例 2〉

顆粒球コロニー刺激因子 (G - C S F) の緩衝溶液にシュクロースおよびヒアルロン酸ナトリウムの緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻製剤を得た。

G - C S F	2 0 W / W %
-----------	-------------



ヒアルロン酸ナトリウム	20W/W%
シュクロース	26W/W%
緩衝成分	適量
全量	100W/W%

【0036】

## 〈実験例1〉

雄性ビーグル犬を用い、実施例1および比較例1で調製した製剤をG-CSFとして $100\mu\text{g}/\text{kg}$ となるように、ゼラチンカプセルに充填した。先端に約2.5cmの長さのシリコンチューブを接着したパプライザー(R) (石川製作所製) にゼラチンカプセルを装着し投与の準備を行なった。外鼻孔よりパプライザーのシリコンチューブ部を鼻腔内に挿入し、ゴム球部分を押し投与した。投与後、一定時間毎に前腕静脈より採血した。血中G-CSF濃度はELISA法 (T. Ichikawa 等: Experimental Hematology 23: 192-195(1955)) を用いて測定した。表1に血中G-CSF濃度-時間曲線下面積 ( $\text{AUC}_G$ ) の値を示した。この結果、高分子類を含有しない比較例に比べカチオンポリマーとしてポリ-L-アルギニンを含む実施例1は $\text{AUC}_G$ で高い値を示し、ポリ-L-アルギニンの添加でG-CSFの鼻粘膜からの吸収が促進されることがわかった。

【0037】

【表1】

投与製剤	比較例1	実施例1
$\text{AUC}_G$ 0→32時間 ( $\cdot\text{hr}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	5.3	10.3

【0038】

## 〈実験例2〉

雄性ビーグル犬を用い、実施例1および比較例2で調製した製剤をG-CSFとして $100\mu\text{g}/\text{kg}$ となるようにゼラチンカプセルに充填した。先端に約2.5cmの長さのシリコンチューブを接着したパプライザー(R) (石川製作所製) にゼラチンカプセルを装着し投与の準備を行なった。外鼻孔よりパプライザーのシリコンチューブ部を鼻腔内に挿入し、ゴム球部分を押し投与した。投与後

、一定時間毎に前腕静脈より採血した。血中G-C S F濃度はE L I S A法を用いて測定した。表2に血中G-C S F濃度-時間曲線下面積 ( $AUC_G$ ) の値を示した。この結果、高分子類を含有しない比較例1に比べてカチオンポリマーではないポリマーであるヒアルロン酸ナトリウムを含有する比較例2は $AUC_G$ でほぼ同じ値を示し、ほとんど吸収促進効果を示さなかった。

【0039】

【表2】

投与製剤	比較例1	比較例2
$AUC_G$ 0→32時間 ( $ng \cdot hr \cdot ml^{-1}$ )	4.8	4.6

【0040】

### 〈実験例3〉

雄性ビーグル犬を用い、実施例1、2および3で調製した製剤をG-C S Fとして $100 \mu g / kg$ となるようにゼラチンカプセルに充填した。先端に約5.0cmの長さのシリコンチューブを接着したパプライザー(R) (石川製作所製) にゼラチンカプセルを装着し投与の準備を行なった。外鼻孔よりパプライザーのシリコンチューブ部を鼻腔内に挿入し、ゴム球部分を押し投与した。投与後、一定時間毎に前腕静脈より採血した。採血した血液中の白血球数はマイクロセルカウンターを用いてカウントした。血中G-C S F濃度はE L I S A法を用いて測定した。表3に増加白血球数-時間曲線下面積 ( $AUC_W$ ) および血中G-C S F濃度-時間曲線下面積 ( $AUC_G$ ) の値を示した。この結果、A E Aやオイドラギッド E-100にはポリ-L-アルギニンより優れた吸収促進効果があることが判明した。

【0041】

【表3】

投与製剤	実施例1	実施例2	実施例3
$AUC_W$ 0→72時間 ( $10^3 \text{ cell} \cdot hr \cdot ml^{-1}$ )	3083	5095	5707
$AUC_G$ 0→31時間 ( $ng \cdot hr \cdot ml^{-1}$ )	13.4	73.0	44.4

## 【0042】

## 〈実験例4〉

雄性ビーグル犬を用い、実施例4、5、6および7で調製した製剤をG-CSFとして $100\mu\text{g}/\text{kg}$ となるようにゼラチンカプセルに充填した。先端に約5.0cmの長さのシリコンチューブを接着したパプライザー(R) (石川製作所製) にゼラチンカプセルを装着し投与の準備を行なった。外鼻孔よりパプライザーのシリコンチューブ部を鼻腔内に挿入し、ゴム球部分を押し投与した。投与後、一定時間毎に前腕静脈より採血した。採血した血液中の白血球数はマイクロセルカウンターを用いてカウントした。血中G-CSF濃度はELISA法を用いて測定した。表4に増加白血球数-時間曲線下面積( $\text{AUC}_W$ ) および血中G-CSF濃度-時間曲線下面積( $\text{AUC}_G$ ) の値を示した。この結果、オイドラギッド E-100の含有量を様々に変化させてもその効果は保持された。

## 【0043】

【表4】

投与製剤	実施例4	実施例5	実施例6	実施例7
$\text{AUC}_W$ 0→72時間 ( $\text{cell}\cdot\text{hr}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	3475	4053	4138	4562
$\text{AUC}_G$ 0→31時間 ( $\text{ng}\cdot\text{hr}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	25.6	27.1	16.8	11.1

## 【0044】

## 〈実験例5〉

雄性ビーグル犬を用い、実施例8、9および10で調製した製剤をG-CSFとして $100\mu\text{g}/\text{kg}$ となるようにゼラチンカプセルに充填した。先端に約5.0cmの長さのシリコンチューブを接着したパプライザー(R) (石川製作所製) にゼラチンカプセルを装着し投与の準備を行なった。外鼻孔よりパプライザーのシリコンチューブ部を鼻腔内に挿入し、ゴム球部分を押し投与した。投与後、一定時間毎に前腕静脈より採血した。採血した血液中の白血球数はマイクロセルカウンターを用いてカウントした。血中G-CSF濃度はELISA法を用いて測定した。表5に増加白血球数-時間曲線下面積( $\text{AUC}_W$ ) および血中G-CSF濃度-時間曲線下面積( $\text{AUC}_G$ ) の値を示した。この結果、オイドラギッド E-100とともにHPMCを添加すると、オイドラギット単独よりも効果が増

強されることが明らかとなった。

【0045】

【表5】

投与製剤	実施例8	実施例9	実施例10
AUC <sub>w</sub> 0→72時間 ( $\mu\text{g}\cdot\text{hr}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	3988	5482	5618
AUC <sub>G</sub> 0→31時間 ( $\text{ng}\cdot\text{hr}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	19.9	54.5	76.7

【0046】

〈実施例1.1〉

顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) の緩衝溶液にD-マンニトールおよびアミノアルキルメタアクリレートコポリマー (オイドラギットE-100) の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻投与製剤を得た。

G-CSF	10.0W/W%
オイドラギットE100	7.5W/W%
D-マンニトール	75.0W/W%
緩衝成分	適量
全量	100W/W%

【0047】

〈比較例3〉

顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) の緩衝溶液にD-マンニトールの緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻投与製剤を得た。

G-CSF	10.0W/W%
D-マンニトール	81.8W/W%
緩衝成分	適量
全量	100W/W%

【0048】

〈実験例6〉

雄性ビーグル犬を用い実施例1.1および比較例3で調製した製剤をG-CSFとして $50\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与されるようにゼラチンカプセルに充填した。先端に約5.0cmの長さのシリコンチューブを接着したパプライザー(R) (石川製作所

製) にゼラチンカプセルを装着し投与の準備を行なった。外鼻孔よりパブライザーのシリコンチューブ部を鼻腔内に挿入し、ゴム球部分を押して投与した。投与後、一定時間毎に前腕静脈より採血した。血中G-CSF濃度はELISA法を用いて測定した。表6に血中G-CSF濃度-時間曲線下面積( $AUC_G$ )の値を示した。その結果、Eudragit E100はG-CSFの経鼻吸収を顕著に促進することが判明した。

【0049】

【表6】

投与製剤	実施例11	比較例3
$AUC_{G\ 0\rightarrow31時間}$ ( $ng\cdot hr\cdot ml^{-1}$ )	67.1	16.4

【0050】

## ＜実施例12＞

インシュリン(ヒト組替え体  $M_w=5700$ )の緩衝溶液にシュクロースおよびアミノアルキルメタアクリレートコポリマー(オイドラギットE-100)およびヒドロキシプロピルメチルセルロース(HPMC)の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻投与製剤を得た。

インシュリン	18W/W%
オイドラギットE100	27W/W%
HPMC	9W/W%
シュクロース	32W/W%
緩衝成分	適量
全量	100W/W%

【0051】

## ＜実施例13＞

インシュリン(同上)の緩衝溶液にシュクロースおよびポリ-L-アルギニンおよびヒドロキシプロピルメチルセルロース(HPMC)の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻投与製剤を得た。

インシュリン	18W/W%
--------	--------

ポリ-L-アルギニン	27W/W%
HPMC	9W/W%
シュクロース	32W/W%
緩衝成分	適量
全量	100W/W%

## 【0052】

## 〈実施例14〉

インシュリン（同上）の緩衝溶液にシュクロースおよびジエチルアミノエチル（DEAE）-デキストランおよびヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻投与製剤を得た。

インシュリン	18W/W%
DEAE-デキストラン	27W/W%
HPMC	9W/W%
シュクロース	32W/W%
緩衝成分	適量
全量	100W/W%

## 【0053】

## 〈実施例15〉

インシュリン（同上）の緩衝溶液にシュクロースおよびキトサン（キトサン8B）およびヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻投与製剤を得た。

インシュリン	18W/W%
キトサン	27W/W%
HPMC	9W/W%
シュクロース	32W/W%
緩衝成分	適量
全量	100W/W%

## 【0054】

## 〈比較例4〉

インシュリン（同上）の緩衝溶液にシュクロースおよびヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻投与製剤を得た。

インシュリン	18W/W%
HPMC	9W/W%
シュクロース	60W/W%
緩衝成分	適量
全量	100W/W%

## 〈比較例5〉

インシュリン（同上）を緩衝溶液に溶解させ以下の濃度の皮下投与液を調製した。

インシュリン	1.0mg/ml
--------	----------

## 【0055】

## 〈実験例7〉

雄性ビーグル犬を用い実施例12、13、14、15および比較例4で調製した製剤を経鼻投与、比較例5で調製した製剤を皮下投与した。経鼻投与群については、インシュリンとして70 $\mu$ g/kg投与されるようにゼラチンカプセルに充填した。先端に約5.0cmの長さのシリコンチューブを接着したパブライザー(R)（石川製作所製）にゼラチンカプセルを装着し投与の準備を行なった。外鼻孔よりパブライザーのシリコンチューブ部を鼻腔内に挿入し、ゴム球部分を押し投与した。皮下投与群では、比較例5の製剤25 $\mu$ g/kgをビーグル犬の背部に皮下投与した。投与後、一定時間毎に前腕静脈より採血した。血中インシュリン濃度はELISA法を用いて測定した。表7に血中インシュリン濃度-時間曲線下面積（AUC）の値を示した。その結果、オイドラギットE100はインシュリンの経鼻吸収を顕著に促進することが判明した。更に、その吸収促進効果は、ポリ-L-アルギニン、DEAE-デキストラン、キトサンよりも優れていた。また、皮下投与に対する実施例12の製剤の生物学的利用率は27%であ

った。

【0056】

【表7】

投与製剤	実施例12	比較例4	比較例5
AUC 0→7時間 (ng・hr・ml <sup>-1</sup> )	29.0	2.6	38.8

投与製剤	実施例13	実施例14	実施例15
AUC 0→7時間 (ng・hr・ml <sup>-1</sup> )	2.9	2.5	23.6

【0057】

【配列表】

# SEQUENCE LISTING

<110> Kirin-Amgen Inc.

<120> Pharmaceutical Powder Preparation of Macromolecular Pharmaceutical Product for Mucosal Administration

<130> P99-0147

<160> 3

<210> 1

<211> 175

<212> PRT

<400> 1

Met Thr Pro Leu Gly Pro Ala Ser Ser Leu Pro Gln Ser Phe Leu Leu

-1 +1 5 10 15

Lys Cys Leu Glu Gln Val Arg Lys Ile Gln Gly Asp Gly Ala Ala Leu

20 25 30



Gln Glu Lys Leu Cys Ala Thr Tyr Lys Leu Cys His Pro Glu Glu Leu

35

40

45

Val Leu Leu Gly His Ser Leu Gly Ile Pro Trp Ala Pro Leu Ser Ser

50

55

60

Cys Pro Ser Gln Ala Leu Gln Leu Ala Gly Cys Leu Ser Gln Leu His

65

70

75

Ser Gly Leu Phe Leu Tyr Gln Gly Leu Leu Gln Ala Leu Glu Gly Ile

80

85

90

95

Ser Pro Glu Leu Gly Pro Thr Leu Asp Thr Leu Gln Leu Asp Val Ala

100

105

110

Asp Phe Ala Thr Thr Ile Trp Gln Gln Met Glu Glu Leu Gly Met Ala

115

120

125

Pro Ala Leu Gln Pro Thr Gln Gly Ala Met Pro Ala Phe Ala Ser Ala

130

135

140

Phe Gln Arg Arg Ala Gly Gly Val Leu Val Ala Ser His Leu Gln Ser

145

150

155

Phe Leu Glu Val Ser Tyr Arg Val Leu Arg His Leu Ala Gln Pro

160

165

170

<210> 2

<211> 174

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Thr Pro Leu Gly Pro Ala Ser Ser Leu Pro Gln Ser Phe Leu Leu Lys

1

5

10

15

Cys Leu Glu Gln Val Arg Lys Ile Gln Gly Asp Gly Ala Ala Leu Gln

20

25

30

Glu Lys Leu Cys Ala Thr Tyr Lys Leu Cys His Pro Glu Glu Leu Val  
35 40 45  
Leu Leu Gly His Ser Leu Gly Ile Pro Trp Ala Pro Leu Ser Ser Cys  
50 55 60  
Pro Ser Gln Ala Leu Gln Leu Ala Gly Cys Leu Ser Gln Leu His Ser  
65 70 75 80  
Gly Leu Phe Leu Tyr Gln Gly Leu Leu Gln Ala Leu Glu Gly Ile Ser  
85 90 95  
Pro Glu Leu Gly Pro Thr Leu Asp Thr Leu Gln Leu Asp Val Ala Asp  
100 105 110  
Phe Ala Thr Thr Ile Trp Gln Gln Met Glu Glu Leu Gly Met Ala Pro  
115 120 125  
Ala Leu Gln Pro Thr Gln Gly Ala Met Pro Ala Phe Ala Ser Ala Phe  
130 135 140  
Gln Arg Arg Ala Gly Gly Val Leu Val Ala Ser His Leu Gln Ser Phe  
145 150 155 160  
Leu Glu Val Ser Tyr Arg Val Leu Arg His Leu Ala Gln Pro  
165 170

<210> 3

<211> 175

<212> PRT

<400> 3

Met Ala Pro Thr Tyr Arg Ala Ser Ser Leu Pro Gln Ser Phe Leu Leu  
-1 +1 5 10 15  
Lys Ser Leu Glu Gln Val Arg Lys Ile Gln Gly Asp Gly Ala Ala Leu  
20 25 30  
Gln Glu Lys Leu Cys Ala Thr Tyr Lys Leu Cys His Pro Glu Glu Leu

35	40	45	
Val Leu Leu Gly His Ser Leu Gly Ile Pro Trp Ala Pro Leu Ser Ser			
50	55	60	
Cys Pro Ser Gln Ala Leu Gln Leu Ala Gly Cys Leu Ser Gln Leu His			
65	70	75	
Ser Gly Leu Phe Leu Tyr Gln Gly Leu Leu Gln Ala Leu Glu Gly Ile			
80	85	90	95
Ser Pro Glu Leu Gly Pro Thr Leu Asp Thr Leu Gln Leu Asp Val Ala			
100	105	110	
Asp Phe Ala Thr Thr Ile Trp Gln Gln Met Glu Glu Leu Gly Met Ala			
115	120	125	
Pro Ala Leu Gln Pro Thr Gln Gly Ala Met Pro Ala Phe Ala Ser Ala			
130	135	140	
Phe Gln Arg Arg Ala Gly Gly Val Leu Val Ala Ser His Leu Gln Ser			
145	150	155	
Phe Leu Glu Val Ser Tyr Arg Val Leu Arg His Leu Ala Gln Pro			
160	165	170	

【 0 0 5 8 】

【発明の効果】

高分子医薬品にカチオン性ポリマー（特にアミノアルキルメタアクリレートコポリマーまたはポリビニルアセタールジエチルアミノアセテート）を添加して、あるいはさらに増粘性ポリマーを添加して、粉末状製剤とすることにより、効果的に粘膜から高分子医薬品を吸収させることができた。

【書類名】 要約書

【要約】

【解決手段】 高分子医薬品およびカチオン性ポリマーを含有してなる粉末状経粘膜投与製剤。

【効果】 高分子医薬品にカチオン性ポリマー（特にアミノアルキルメタアクリレートコポリマーまたはポリビニルアセタールジエチルアミノアセテート）を添加して、あるいはさらに増粘性ポリマーを添加して、粉末状製剤とすることにより、効果的に粘膜から高分子医薬品を吸収させることができた。

【選択図】 なし

認定・付加情報

特許出願の番号	平成11年 特許願 第081549号
受付番号	59900274666
書類名	特許願
担当官	兼崎 貞雄 6996
作成日	平成11年 5月11日

<認定情報・付加情報>

【特許出願人】

【識別番号】	393031128
【住所又は居所】	アメリカ合衆国、デラウェア・19801、ウィルミントン、オレンジ・ストリート・1209
【氏名又は名称】	キリン・アムジエン・インコーポレーテッド

【代理人】

申請人

【識別番号】	100091096
【住所又は居所】	東京都港区虎ノ門1丁目17番1号 虎ノ門5森ビル3階平木国際特許事務所

【氏名又は名称】	平木 祐輔
----------	-------

【選任した代理人】

【識別番号】	100096183
【住所又は居所】	東京都港区虎ノ門1丁目17番1号 虎ノ門5森ビル3階平木国際特許事務所

【氏名又は名称】	石井 貞次
----------	-------

【選任した代理人】

【識別番号】	100098121
【住所又は居所】	東京都港区虎ノ門1丁目17番1号 虎ノ門5森ビル3階平木国際特許事務所

【氏名又は名称】	間山 世津子
----------	--------

次頁無

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [393031128]

1. 変更年月日 1997年 7月18日

[変更理由] 名称変更

住 所 アメリカ合衆国、デラウェア・19801、ウイルミントン、  
オレンジ・ストリート・1209

氏 名 キリンーアムジエン・インコーポレーテッド